

Zollikerstrasse 19  
Postfach 372  
CH-8029 Zürich  
www.ritscher.net

Fon: +41 (0)1 395 44 88  
Fax: +41 (0)1 395 44 84  
email: info@ritscher.net

Dr. Thomas Ritscher, Dipl. Chem.\*  
Dr. Klaus Hinkelmann, Dipl. Chem.\*  
Dr. André Kasche, Dipl. Biochem.\*  
Dr. Matthias Stolmár, Dipl. Chem.\*  
Friedrich Scheele, Dipl. Ing.\*  
Jan Ungermann, Dipl. Phys.

An das  
Europäische Patentamt  
D-80298 München

\*European Patent Attorney

**PER FAX: 089 23 99 44 65**

München, den 22. Dezember 2005

**Internationale Patentanmeldung PCT/CH 2004/000610**  
**Titel: "Verfahren zur In vitro Evolution von Polypeptiden"**  
**Unser Zeichen: 50005PCT**

Auf den schriftlichen Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde vom 28.11.2005:

## **I      Erfinderische Tätigkeit**

Der Prüfer vertritt die Auffassung, dass der Gegenstand des Anspruchs 1 im Lichte der Dokumente D5 und D3 nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhen würde. Dieser Argumentation wird mit der folgenden Begründung widersprochen.

### Dokument D5 (Doi et al.)

Als nächstliegender Stand der Technik lehrt D5 ein Verfahren zur *in vitro* Herstellung sowie zur Auswahl von Polypeptiden, bei dem in jedem Emulsionskompartiment einer Wasser-in-Öl-Emulsion durch eine *in vitro* Transkriptions-/Translationsreaktion mit Streptavidin fusionierte Polypeptide hergestellt und an diese kodierende biotinylierte DNA gebunden werden. Dieses Verfahren resultiert in Protein-DNA-Fusionen, die durch den Streptavidin-Biotinkomplex verbunden sind und je nach Polypeptidaffinität selektiert werden können (Siehe Abstract).

D5 offenbart zudem auf Seite 229, rechte Spalte, 1. Absatz, das wohl auch andere Proteine, d.h. spezielle DNA-bindende Proteine zur Verbindung von DNA und Protein eingesetzt werden könnten und verweist diesbezüglich auf die Literaturstelle 8, d.h. Cull et al. (das Dokument D6 im vorliegenden Verfahren). Bezuglich D6 bleibt zu vermerken, dass dort zur Verbindung von DNA und Protein ein DNA-bindendes Protein, der lac-Repressor, mit dem Protein zusammen als Fusionsprotein exprimiert wird und auch dort ein Protein-DNA-Komplex zustande kommt.

Somit bleibt festzustellen, dass D5 letztendlich neben der eigenen Lehre eines Streptavidin-Biotinkomplexes zur Verbindung von DNA und Protein auch weitere Protein-DNA-Komplexe mit DNA-bindenden Proteinanteilen lehrt.

Wie der Prüfer zu Recht festgestellt hat, ergibt sich im Lichte der Offenbarung von D5 als nächstliegendem Stand der Technik objektiv die Aufgabe, zu D5 alternative Verfahren zur *in vitro* Evolution von Polypeptiden bereitzustellen.

Eine solche Alternative stellt das Verfahren der vorliegenden Erfindung nach Anspruch 1 zur Verfügung, bei dem ein konstanter Peptidanteil des Polypeptids kovalent an die dafür kodierende DNA gebunden wird.

Da D5 selbst als Alternative zu dem offenbarten Streptavidin-Biotinkomplex als Verbindungsglied zwischen DNA und Protein ausser möglichen DNA-bindenden Komplexen keine weitere Alternative offenbart, geschweige denn eine kovalente Bindung zu diesem Zweck auch nur andeutet, beruht der Gegenstand von Anspruch 1 auf einer erforderlichen Tätigkeit im Lichte von D5.

#### D3 (WO 98/37186)

Wie bereits im Schreiben an die internationale Recherchenbehörde vom 6. April 2005 ausgeführt wurde, offenbart D3 ein Verfahren zur Herstellung einer Proteinexpressionsbibliothek, bei dem die Proteine kovalent mit der sie kodierenden DNA verbunden werden. Die dort verwendeten DNAs kodieren für einen Protein-DNA-bindenden Bereich (das Protein A des P2 Phagen; P2A) und einen Displaybereich (das zu untersuchende Protein).

D3 beschreibt keinerlei *in vitro* Kompartimentierung während der Protein-expression bzw. der Protein-DNA-Bindung. Genauer gesagt ist es gemäß D3, S. 4, 2. Absatz sogar der besondere Vorteil des Verfahrens von D3, dass diese Fusionsderivate frei in Lösung vorliegen:

“It has now surprisingly been found that a peptide or protein expression library may be generated in which the specific translation products of the genetic material in the library are directly and covalently attached to the encoding DNA sequence. This then obviates the use of cellular genetic packages with their inherent limitations during construction and screening of the expressed library. This advance allows for rapid screening for desired peptides or proteins with cycles of selection, DNA amplification and expression.”  
(emphasis added)

Seite 6, letzter Satz im 3. Absatz lehrt zudem:

“This library differs from previous *in vivo* libraries using cells or unicellular organisms to express the peptides as the peptide or protein for display is presented directly on the genetic material encoding it and not on the surface of a membrane or cell wall.” (emphasis added)

Die spezifische Bindung von Protein und der dafür kodierenden DNA wird zum einen (i) durch die spezifische Bindungsaffinität des Proteinanteils P2A und (ii) einer speziellen Erkennungssequenz auf der DNA gewährleistet (siehe z.B. S. 11, Z. 5-9), aber auch durch die räumliche Abgrenzung anderer Peptide und DNAs mit identischer Bindungsspezifität durch die *in vivo* Expression des einzelnen genetischen Materials in einer einzelnen Zelle oder Organismus (siehe S. 8, 3. Absatz und Anspruch 2 auf Seite 58).

So offenbart Seite 25, zweiter Absatz, zur räumlichen Abgrenzung der einzelnen Mitglieder der Expressionsbibliothek:

“The generation of the library expressing the display peptide may be performed *in vivo* by growing transformed cells or organisms.”

Als Alternative wird lediglich die zellfreie Herstellung als solche genannt.

*In vitro*, coupled transcription/translation may be performed in cell-free extracts.” (3. Absatz)

Somit ist D3 lediglich zu entnehmen, dass kovalente Protein-DNA-Fusionsproteine einzeln in Zellen oder Organismen bzw. in zellfreier Lösung als

solche hergestellt werden können. Kompartimentierende zellfreie *in vitro* Verfahren werden nicht offenbart.

Die D3 zugrundeliegende Aufgabe ist somit die Vermeidung von Zellen oder Zellbestandteilen, die bei der Herstellung und dem anschließenden Screening stören (S. 4, 2. Absatz, siehe oben), und die Lösung dazu (siehe S. 6, 3. Absatz, wie oben bereits zitiert) ist die direkte kovalente Bindung des exprimierten Proteins an seine kodierende DNA.

#### Die Kombination von D5 und D3

In Bezug auf die Möglichkeit der Verbindung der Lehren von D5 und D3 bleibt festzustellen, dass der Fachmann die Lehren beider Dokumente als zufällige Zusammenschau hätte miteinander verbinden können. Somit hätte der Fachmann auch die Lehre der kovalenten Bindung von DNA und Protein gemäß D3 in das Verfahren unter Verwendung von Mikrokompartimenten gemäß D5 übertragen können und wäre zum Gegenstand von Anspruch 1 gelangt.

Da aber der vorliegenden Erfindung im Lichte von D5 objektiv die Aufgabe zugrunde liegt, Alternativen zu dem mikrokompartimentierenden Verfahren von D5 bereitzustellen und D3 demgegenüber die andere Aufgabe zugrunde liegt, eine Mikrokompartimentierung durch z.B. Zellen und Organismen bei der Zuordnung von DNA und dem exprimierten Protein zu vermeiden, würde der Fachmann auch nicht erwarten, in D3, dem eine andere Aufgabe zugrunde liegt, eine Lösung für das Problem aus D5 zu finden. Gerade weil D3 eine andere, ja sogar von der Lehre von D5 diametral abweichende Aufgabe als die von D5 zugrunde liegt, würde der Fachmann in D3 auch keine Lösung für seine Aufgabe aus D5 erwarten. Dementsprechend würde der Fachmann die Lehren beider Dokumente auch nicht miteinander verbinden.

Des Weiteren bleibt auch festzustellen, dass der Fachmann zwar zufällig die unterschiedlichen Lehren kovalenter DNA-Protein-Konjugate von D3 auf das mikrokompartimentierende Verfahren von D5 hätte übertragen können. Gemäß der etablierten Rechtsprechung des EPAs ist die relevante Frage jedoch nicht, ob der Fachmann die Erfindung hätte durchführen können, sondern, ob er dieses

auch tatsächlich tun würde, um ein technisches Problem zu lösen („could-would-approach“; T 200/94; T 885/95). Also ist der Punkt nicht, ob der Fachmann zu dem Gegenstand der Erfindung hätte gelangen können, sondern ob er in Erwartung des Ergebnisses dem Stand der Technik dazu einen Anreiz („promptings in the art“) entnehmen konnte (T 455/87, T 414/98).

Weil (i) D5 aber auf nicht-kovalente Bindungen sowohl als konkretes Beispiel (Biotin-Streptavidin-Komplex) wie auch bei der Nennung möglicher Alternativen eingeschränkt ist, und (ii) D3 dem Fachmann zudem konkret den Vorteil der kovalenten Verbindung von DNA und Protein ohne Kompartimentierung z.B. durch Zellen oder Organismen vorschlägt, kann der Fachmann beiden Dokumenten allein oder in Kombination keinen Anreiz entnehmen, diese Lehren miteinander zu verbinden. Daher beruht die erfindungsgemäße Alternative der Kombination von (a) kovalent gebundenen DNA-Fusionproteinen für die kompartimentfreie Expression mit (b) dem Verfahren von D5, dass selbst eindeutig auf eine nicht-kovalente Verbindung abzielt, auf einer erfinderischen Tätigkeit.

Zusammenfassend wird daher noch einmal hervorgehoben, dass, (i) da der Fachmann weder die auf unterschiedliche Aufgaben gerichteten Dokumente miteinander verbinden würde, (ii) noch einem der beiden Dokumente einen Anreiz zum Austausch der nicht-kovalenten Komplexbindung aus D5 durch eine kovalente Bindung aus D3 entnehmen kann, der Gegenstand von Anspruch 1 erfinderisch ist.

Bezüglich der Gegenstände der Ansprüche 2 bis 19 bleibt festzustellen, dass diese direkt oder indirekt auf den Anspruch 1 rückbezogen sind und damit dessen patentierbare Merkmalskombination mitumfassen.

## II Antrag

Im Lichte der oben genannten Argumente wird um die Erteilung eines positiven internationalen vorläufigen Prüfungsbescheids gebeten, der die Patentierbarkeit der Gegenstände der Ansprüche 1 bis 19 in vollem Umfang bestätigt.

André Kasche (Reg.-Nr. 131120)

THIS PAGE BLANK (USPTO)